Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik im Klinikum
Steglitz der Freien Universität Berlin
Geschäftsführender Direktor Prof. Dr. med. E.-O. Riecken

Untersuchungen über die biologische Aktivität verschiedener Testlösungen mit Dermatophagoides pteronyssinus-Extrakt

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Andrian PRAMUDJI
Cirebon, Indonesien

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik im Klinikum
Steglitz der Freien Universität Berlin
Geschäftführender Direktor Prof. Dr. med. E.-O. Riecken

Untersuchungen über die biologische Aktivität verschiedener Testlösungen mit Dermatophagoides pteronyssinus-Extrakt

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Andrian PRAMUDJI
Cirebon, Indonesien

Referent: Prof. Dr. med. H. Michel
Korreferent: Prof. Dr. med. G. Stüttgen

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 22.5.1985

M e i n e n l i e b e n E l t e r n ,
meinem Onkel Ir. Ganda Kusuma und
meiner Schwester dr. Widya Pramudji

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549619_0008

Inhalt: Seite:

I.	Einleitung	4
	1.1. Hausstaubmilbe Dermatophagoides pteronyssinus	4
	1.2. Allergische Reaktion vom Typ I	10
	1.3. Standardisierung von Allergen-extrakten	15
II.	Fragestellung	22
III.	Patient, Material und Methode	23
	3.1. Patienten	23
	3.2. Auswahlkriterien für die Patienten	24
	3.3. Testlösungen mit D. pteronyssinus-Extrakten	25
	3.4. Hautpricktest	26
	3.5. Bestimmung der biologischen Aktivität nach dem HEP-System	28
	3.6. Statistische Auswertung	30
IV.	Ergebnis	32
V.	Diskussion	43
VI.	Zusammenfassung	49
VII.	Literaturverzeichnis	51

I. Einleitung

1.1. Hausstaubmilbe Dermatophagoides pteronyssinus

Hausstaub ist ein Komplex von Partikeln, die im Haus sedimentiert sind. Makroskopisch ist der Hausstaub ein graues Pulver von wechselndem Aussehen. Zu den Bestandteilen des Hausstaubes gehören unter anderem Haare, Federn, Kapok, tierische und menschliche Schuppen, Pollen und lebende Organismen. Entsprechend ihrer Herkunft werden die lebenden Hausstaubbewohner in allochtone (von anderer Stelle kommende) und autochtone (eingesessene) Organismen eingeteilt. Während Bakterien, Algen, meso- und hydrophile Schimmelpilze Teile der allochtonen Organismen sind, werden xerophile Schimmelpilze, Schimmelpilzsporen und Hausstaubmilben zu den autochtonen Organismen gerechnet (68).

Hausstaubmilben sind Anthropoden, deren Größe zwischen 260 x 160 µm und 335 x 200 µm liegt (73). Für die Entwicklung vom Ei bis zur erwachsenen Milbe wird im Durchschnitt 25 Tage gebraucht. Ihre Lebenszeit beträgt 2 - 3,5 Monate. Das feucht-warme Mikroklima und das Hausstaubmilieu schaffen ein günstiges ökologisches System für ihr Wachstum. Die Vermehrung und das Wachstum der Milben finden bei einer Temperatur zwischen 20° - 30°C statt, am optimalsten bei 25°C und der relativen Luftfeuchtigkeit zwischen 70 - 80% (23, 60, 115, 118). Wenn solche Bedingungen im Spätsommer vorhanden sind, erreicht die Milbenpopulation ihren höchsten Wert. Wie durch die mehrjährige Beobachtung von VOORHORST et al. (112, 115) festgestellt wurde, ist die Populationsdichte im Spätsommer höher als im späten Frühjahr. Im Herbst enthalten 85% aller Hausstaubproben aus der Schweiz Hausstaubmilben, im Winter sind es dagegen nur 50% (73).
Hausstaubmilben ernähren sich von den Hausstaubbestandtei-

len wie Pollen, Diasporen von Mikroorganismen, Schimmelpilz-Myzelien, Schuppen von Haustieren, Bakterien und pfanzlichen Fasern. Man kann die Milben auf menschlichen Schuppen züchten. Es kann angenommen werden, daß Hausstaubmilben den ganzen Hausstaub verzehren können (22).

Hausstaubmilben werden die Milbenarten genannt, die am häufigsten und regelmäßig im Hausstaub vorkommen. Es handelt sich um Dermatophagoides pteronyssinus, Dermatophagoides farinae und Euroglyphus maynei. Zusammen gehören sie zur Milbenfamilie Pyroglyphidae, von der es 34 Milbenarten gibt (22, 112).

Die Hausstaubmilben spielen für das Entstehen von inhalativen Hausstauballergenen eine wichtige Rolle und sind für die Krankheitsbilder allergische Rhinitis, exogen-allergisches Asthma bronchiale und atopische Dermatitis ätiologisch von Bedeutung (9, 10, 35, 53, 54, 83, 114). Vermutlich besteht ein kausaler Zusammenhang zwischen Hausstaubmilben (D. pteronyssinus) und Sudden Death in Infancy Syndrome (SDIS), jedoch konnten die bisherigen Untersuchungen kein einheitliches Ergebnis liefern (52, 63, 72, 98). Bei einer Autopsie von SDIS-Opfern fanden TURNER et al. (105) in 37% der Fälle eine Erhöhung der Serum-IgE-Antikörper gegen D. pteronyssinus. Die Befunde der Pathologie ließen vermuten, daß die Anaphylaxie eine der möglichen Ursachen von SDIS war.

Die Bedeutung der Hausstaubmilben für die Hausstauballergie wird in der Literatur unterschiedlich beurteilt. Haupsächlich von den holländischen Forschern um VOORHORST (114) wird die Ansicht vertreten, daß die Milbe D. pteronyssinus das eigentliche Allergen des Hausstaubes sei.
Dies wird durch die Untersuchungen von MANSFIELD et al. (70), MUMCUOGLU (75) und WÜTHRICH und LUGGEN-BRUN (122) bestätigt.

Durch andere Untersuchungen ((25, 32, 68, 78, 79, 104, 108) konnte jedoch nachgewiesen werden, daß Hausstauballergene eine komplexe Mischung aus diversen Allergenen verschiedenen Ursprungs sind. Es sind zum Beispiel Katzen- und Hundeepithelien, Tierhaare, Schimmelpilze, Federn, menschliche Haare und Hautschuppen. Ihre Stellung als Hausstauballergene ist nicht weniger wichtig als die der Hausstaubmilben (D. pteronyssinus). Ein Komplementverbrauch konnte von BERRENS (16) durch gereinigte Hausstaubextrakte festgestellt werden. Dies wurde als Beweis dafür gewertet, daß nichtimmunologische Systeme im Hausstaub allergische Reaktionen auslösen können.
Von VOORHORST et al. (109, 112) wurde berichtet, daß in Ausnahmefällen menschliche Hautschuppen (im milbenfreien Davoser Hausstaub) oder Vorratsmilben Glycyphagus domesticus einige Bedeutung für die Hausstauballergie haben können.

Neuere Untersuchungen in verschiedenen Erdregionen (40, 80, 120, 121) ergaben, daß Asthmapatienten bei Sensibilisierungen gegen Hausstaub mit verhältnismäßig gleicher Häufigkeit positive Reaktionen auf D. pteronyssinus und auf Vorratsmilben aufweisen. Diese Tatsache wurde dadurch erklärt, daß viele der Vorratsmilben der Gattungen Tyrophagus putrescentiae, Acarus siro, Glycyphagus domesticus, Lepidoglyphus destructor einen wichtigen Anteil der regionalen Hausstaube ausmachen. Es wurde folgende Schlußfolgerung gezogen: Obwohl D. pteronyssinus eine wichtige Ursache für Asthmabeschwerden ist, sind die Vorratsmilben als ein Zusatzfaktor für das Symptom anzusehen, und deren Bedeutung für die Hausstaubsensibilisierung sollte nicht außer Acht gelassen werden.

Die Hausstaubmilben sind geographisch weit verbreitet zu finden. Die Gattung D. pteronyssinus kommt weltweit und überall in menschlichen Siedlungen vor.
Besonders in Zonen mit feuchtem, gemäßigtem Klima werden

Hausstaubmilben am häufigsten gefunden. In trockenen Gegenden oder in Hochgebirgen, wo in Häusern durch geringe Luftfeuchtugkeit, niedrige Temperatur und längere Heizperiode ein trockenes Innenklima entsteht, kommen die Hausstaubmilben seltener oder gar nicht vor. In den kalten, trockenen Gebieten Kanadas ist die Zahl der Hausstaubmilben geringer als in den Niederlanden, England und Japan (23). Die Analyse von Hausstaubproben aus Davos zeigte einen Gehalt von 0 - 7 Milben (D. pteronyssinus) pro 5 g Staub. Im Vergleich zum holländischen Hausstaub ist die Milbenzahl 40 - 70 mal niedriger (96, 113).
Die regionale Höhe über dem Meeresspiegel stellt für das Milbenwachstum kein hemmender Faktor dar. Eine wesentliche Voraussetzung dafür sind vielmehr die regionalen, feucht-warmen Klimaverhältnisse. GITOHO et al. (43) fanden eine hohe Zahl von D. pteronyssinus (100 Milben / 5 g Staub) in Hausstaubproben aus den tropischen Gebirgen in Afrika, die über 1650 m über der Meeresoberfläche liegen und in denen es die meiste Zeit des Jahres feucht und warm ist. Ein vergleichbares Ergebnis erbrachte BLYTHES Untersuchung (19) von Hausstaub aus den südamerikanischen Hochgebirgen. AMOLI und CUNNINGTON (11) berichteten, daß D. pteronyssinus in 90% der Hausstaubproben aus der Region des Kaspischen Meeres im Iran enthalten ist, wo die jährliche Durchschnittstemperatur 17° C und die relative Luftfeuchtigkeit 75% betragen. Die Hausstaubmilbe machte 94% der Pyroglyphidae und 60% der totalen Milbenpopulation aus. Das häufige Vorkommen der Milben wurde in Verbindung mit der relativ hohen Häufigkeit allergischen Asthma bronchiale in dieser Region gebracht.
Folgendes Fazit wurde von van BRONSWIJK (22) gezogen: Die D. farinae - Gruppe und D. pteronyssinus sind fast kosmopolitisch; nur im arktischen, sub-arktischen und alpinen Klima werden sie nicht gefunden.

Die einzelnen Hausstaubmilbenarten haben eine unterschied-

liche geographische Häufigkeitsverteilung. In Westeuropa kommt D. pteronyssinus am häufigsten vor, gefolgt von D. farinae. In Nordamerika ist D. farinae die prädominierende Milbe im Hausstaub. Im Gegensatz zu den beiden anderen Spezies hat Euroglyphus maynei eine ungleichmäßige Verbreitung, die noch ungenügend bestimmt werden konnte (112).

In alten feuchten Häusern kommen die Hausstaubmilben häufiger als in trockenen, zentral beheizten und modern gebauten Wohnungen vor. In Hausräumen findet man die Milben dort, wo Hausstaub als Nahrungsquelle vorhanden ist und günstige mikroklimatische Bedingungen herrschen. Dies ist zum Beispiel in Schränken, gepolsterten Möbeln, Matratzen, Bettwäsche, Wolldecken, Kopfkissen, auf Fußböden und Mobiliar der Fall. Die Milbenzahl ist auf bzw. in Matratzen am höchsten. Die Umgebung der Knöpfe und Nähte ist besonders stark infiziert (20, 21, 58, 60, 67, 74, 93). Im Vergleich dazu weisen Fußböden von Schlaf- und Wohnzimmern eine geringere Milbenzahl auf, wobei der Fußbodenstaub von Schlafzimmern meistens einen höheren Milbengehalt als der von Wohnzimmern hat (21, 23, 60, 85, 93).
Matratzen und Polstermöbel dienen als Reservoir für die Verteilung der Hausstaubmilben auf dem Fußboden. Die Milbenzahl der infizierten Matratzen bzw. Polstermöbel korreliert mit der vom Fußboden (13).
RAO et al. (85) stellten fest, daß die totale Milbenpopulation des Fußbodenstaubes von Schlafzimmern in privaten Häusern in Cardiff / Wales nur 10% der Milbenmenge des korrespondierenden Matratzenstaubes ausmacht. Die Analyse des Matratzenstaubes aus 100 Krankenhausbetten zeigte, daß 94 Matratzen frei von Hausstaubmilben sind. Die anderen sechs Matratzen enthielten nur sieben D. pteronyssinus. Das häufige Wechseln und Waschen von Bettwäschen und das Reinigen von Matratzen sind wahrscheinlich der Hauptgrund für das Fehlen von Hausstaubmilben in Krankenhausbetten.

Das eigentlich wichtige Allergen ist allerdings nicht an die Milbenkörper gebunden. Im Milbenkörper ist nur 1/1000 Teil der Allergenmenge enthalten, die die Milbe während drei Monate ihres Lebens produziert und in der Milbenkultur hinterlassen hat (112). In Milbenfäzes ist der Allergengehalt besonders hoch. Im Hausstaub stellen sie die weitaus größere Allergenquelle als die Milbe selbst dar. Dieses Allergen wird teilweise durch die Maillard-Reaktion gebildet, bei denen Degradationsprozesse an Hausstaubkonstituenten erfolgen und die im europäischen Hausstaub hauptsächlich im Magen-Darm-Trakt der Hausstaubmilben stattfinden (16, 21). Die Anzahl der entstandenen Lysin-Zucker-Bindungen an den immunologisch aktiven Trägermolekülen, die zugleich Konstituenten der Hausstaubpartikel sind, bestimmt die allergene Potenz. Bei der Zerstörung der die Milbenfäzes umhüllenden peritrophischen Membran wird das Hausstauballergen freigesetzt (21).
Nach van de LUSTGRAAF et al. (68) scheinen die Hausstaubmilben und die xerophilen Schimmelpilze (Aspergillus glaucus und und A. restrictus) für die Degradation der Bestandteile des Hausstaubes, die zur Entstehung allergisch aktiver Anteile führen, gleich bedeutsam zu sein. Sie rufen bei Atopikern klinische Symptome hervor, deren Pathophysiologie der allergischen Reaktion vom Frühtyp I bzw. vom anaphylaktischen Typ zugrunde liegt.

1.2. Allergische Reaktion vom Typ I

Unter Allergie verstand von PIRQUET die veränderte Reaktionsfähigkeit des Organismus gegen das fremde Antigen. Diese Veränderung wurde im Sinne einer Vermehrung, d.h. Hypersensitivität oder einer Verminderung, d.h. Immunität interpretiert (91). Zum heutigen Verständnis werden in der klinischen Praxis Allergie bzw. allergische Krankheiten, z.B. Heufieber, Asthma, Rhinitis, Urtikaria und systematische Anaphylaxie als diejenigen Krankheiten bezeichnet, welche Hypersensitivitätsreaktionen bzw. -zuständen vom Frühtyp entsprechen (31).

Atopie ist nach COCA und COOKE eine beim menschlichen Individuum vorhandene Form der Überempfindlichkeit, zu der eine Anzahl bei familiärer Veranlagung vorkommender Krankheiten, z.B. Pollinose, Asthma bronchiale, Kinderekzem, Neurodermatitis und einige Urtikariaformen gezählt werden kann. Bei Atopie handelt es sich nicht, wie zunächst angenommen wurde, nur um eine erbliche Überempfindlichkeit eines oder mehrerer Schockgewebe mit spontan vorhandenen, hitzelabilen und nicht präzipitierbaren Serumantikörpern, sondern darum, daß atopische Antikörper (Reagin) auch nach Sensibilisierung mit Antigenen (Atopenen) auftreten können. Durch tierexperimentelle Untersuchungen und klinische Beobachtungen wurde gezeigt, daß Atopien auch bei Laboratoriumstieren und bei Nichtatopikern erzeugt werden können. Trotz der zunehmenden Ungenauigkeit der Begriffsbestimmung ist der Atopiebegriff für die Klinik der Soforttyp-Sensibilisierung wichtig geworden. Basierend auf objektiven serologischen Untersuchungen, wird Atopie als jene Form der immunologischen Reaktivität definiert, bei der reagine (IgE) Antikörper rasch als Antwort auf eine alltägliche und übliche Exposition gegenüber Alltagsallergenen in der Umgebung des Individuums gebildet werden (17).

Durch den Übertragungsversuch von PRAUSNITZ und KÜNSTNER, die bei einem nicht-sensibilisierten Empfänger "urtikarielle Sofortreaktionen" durch die intrakutane Injektion vom Serum eines Allergikers und durch die nachfolgende Applikation des Antigens an dieselbe Hautstelle beobachteten, konnten die Existenz und die Effektivität spezifischer Antikörper im Serum des Allergikers nachgewiesen werden.
Erst von ISHIZAKA und WIDE, JOHANSSON u.a. konnten die Reagine isoliert und dargestellt werden. Die Unterscheidung der Reagin-Antikörper (IgE) von den anderen Antikörperklassen, wie z.B. IgA, IgD, IgG und IgM wurde dadurch ermöglicht (47).

Die Einteilung der allergischen Reaktionen in vier Grundtypen ist auf COOMBS und GELL (30) zurückzuführen. Danach werden die anaphylaktischen Reaktionen dem Typ I, die zytotoxischen Reaktionen dem Typ II, die durch toxische Verbindungen ausgelösten Läsionen dem Typ III und schließlich die Sensibilisierung vom Spättyp bzw. Tuberkulintyp dem Typ IV zugeordnet.

Der Begriff Anaphylaxie wurde erstmalig von RICHERT geprägt. Darunter wird eine Schutzlosigkeit, Überempfindlichkeit oder Sensibilisierung verstanden. Dies geht aus seinen Beobachtungen bei den Hunden hervor, denen zweimal im Abstand von 20 - 30 Tagen die gleiche Dosis eines toxischen Glyzerinextraktes aus den Antennen von Meeresaktinien injiziert wurde. Nach der zweiten Injektion trat bei den Tieren ein anaphylaktischer Schock mit tödlicher Folge auf.
ARTHUS bewies, daß eine anaphylaktische Reaktion nicht nur durch toxische Substanzen bei Hunden erzeugt werden kann. Durch die wiederholten subkutanen Injektionen eines artfremden Serums (Pferdeserum) bei Kaninchen konnte er lokale entzündliche Reaktionen mit Blutungen und Nekrosen (Arthus-Phänomen) feststellen (31).

Die pathophysiologische Funktion der allergischen Reaktion vom anaphylaktischen Typ setzt die Mitwirkung der aus der Immunoglobulinklasse E stammenden spezifischen Antikörper (Reagin) voraus, die der Organismus nach einer Sensibilisierung mit Antigen oder Allergen produziert. Auf der zellulären Ebene wird die IgE-Synthese durch das Wechselspiel zwischen B-Lymphozyten als Vorläufer der IgE-sezernierenden Plasmazellen und T-Lymphozyten mit ihren Subzellen, Helfer- und Suppressor-T-Zellen, reguliert (50).
IgE ist ein homozytotroper (spezieseigene Mastzellen sensibilisierender), sessiler Antikörper (47, 116), der die besondere Eigenschaft besitzt, sich mit hoher Affinität an Oberflächenrezeptoren von Targetzellen zu binden. Die Targetzellen sind primär die Mastzellen, beim Menschen sind es zusätzlich die basophilen Granulozyten (31). Die Bindung an den Oberflächenrezeptoren wird durch das F_c-Fragment des IgE-Moleküls bestimmt (36).

Wenn das Antigen oder das Allergen dem bereits dagegen sensibilisierten Organismus erneut zugeführt wird, wird die Mastzelle durch die Bindung des Antigens an mehrere fixierte IgE aktiviert. Erforderlich für das Zustandekommen der Brückenbindung ist wahrscheinlich die Beteiligung der bivalenten Antigene und Antikörper (31). Über eine Sequenz enzymatischer Reaktionen, bei denen das Ausmaß der Mediatoren-Sekretion vom durch die ß-Rezeptoren- und Adenylzyklase-Stimulierung gesteuerten intrazellulären cAMP-Spiegel abhängig ist (61), wird aus den degranulierten Mastzellen eine Reihe pharmakologisch wirksamer Mediatoren freigesetzt. Es sind zum Beispiel Histamin, SRS-A (Slow Reacting Substance of Anaphylaxis), Serotonin, Bradykinine, Prostaglandine, Heparin und ECF-A (Eosinophil Chemotactic Factor of Anaphylaxis).

KÖNIG (61) unterscheidet zwischen präformierten und neu

generierten Mediatoren. Zu den präformierten Mediatoren gehören Histamin, ECF-A, ECF-Oligopeptide, NCF (Neutrophil Chemotactic Factor), Heparin und Chymase (Protein). Die neu generierten Mediatoren bestehen aus SRS-A, PAF (Platelet Aggregating Factor) und Lipid-chemotaktische Faktoren.

Für die Entzündungsvorgänge in der anaphylaktischen Reaktion spielt Histamin als ein biogenes Amin, das durch das Enzym Histidindecarboxylase aus Histidin gebildet wird, eine besondere und tiefgreifende Rolle. Histamin bewirkt eine schnelle Kontraktion der glatten Muskulatur, eine Vasodilatation sowie eine Erhöhung der Kapillarpermeabilität. Bei intrakutaner Gabe von Histamin werden eine punktförmige sofort auftretende Rötung, ein flüchtiges,unregelmäßig begrenztes (reflektorisches) Erythem und eine Quaddel (triple response) sichtbar (42).

SRS-A ist ein saures,hydrophiles, schwefelhaltiges Lipid, dessen Struktur noch nicht restlos aufgeklärt ist. Im Gegensatz zu Histamin ist SRS-A im normalen Gewebe nicht vorhanden und wird erst durch die allergische Reaktion gebildet und freigesetzt. SRS-A ruft eine langsam einsetzende, aber stark und lang anhaltende Kontraktion der bronchialen Muskulatur hervor und kommt hauptsächlich als Mediator für das allergische Asthma in Frage (42).

Bradykinin hat eine kontrahierende Wirkung auf die glatte Muskulatur und gefäßdilatierende Wirkung. Es handelt sich um ein basisches Nonapeptid, das durch die Aktivität des Plasmakallikreins (Kininogenase) aus Kininogenen gebildet wird. Serotonin (5-Hydroxytryptamin) spielt bei anaphylaktischen Reaktionen des Menschen nur eine untergeordnete Rolle (116).

Durch die Freisetzung der NCF und ECF-A wird die Migration

der Eosinophilen und Neutrophilen in das Reaktionsgebiet eingeleitet. KÖNIG et al. (62) wiesen nach, daß auch neutrophile Granulozyten nach einer entsprechenden Aktivierung ECF bilden und freisetzt.

1.3. Standardisierung von Allergenextrakten

Allergenextrakte werden in der Praxis routinemäßig sowohl für die diagnostischen Hauttestungen bzw. Provokationstests als auch für die (Hyposensibilisierungs-) Therapie allergischer Erkrankungen eingesetzt. Die Spezifität und Reproduzierbarkeit (Genauigkeit) solcher diagnostischen Maßnahmen hängen hauptsächlich von der Qualität der verwendeten Allergenextrakte und von der Technik der Testdurchführung ab. Für den Erfolg der Hyposensibilisierungstherapie ist die Qualität der Allergenextrakte ebenfalls von besonderer Bedeutung.

Um den Anforderungen an die Qualität gerecht zu werden, sollten Allergenextrakte bestimmte Eigenschaften besitzen. Dies sind zum Beispiel der hohe Reinigungsgrad, die deutliche Charakterisierung der verantwortlichen Allergene, die Stabilität der Allergenmoleküle und die zweckmäßige Standardisierung des allergenen Inhalts und der biologischen Aktivität der Allergenextrakte (4).

Gerade bei der Herstellung der kommerziellen Allergenextrakte wird die gewünschte Qualität in den meisten Fällen nicht erreicht. Schon das Ausgangsmaterial kann nicht immer genügend definiert und charakterisiert werden. Komplexe Mischugnen mit anderen Anteilen aller extrahierbaren Komponenten der ursprünglichen Allergenproben spiegeln die nicht ausreichende Verarbeitung des Ausgangsmaterials wider. Bei der Antigenanalyse des D. pteronyssinus-Extraktes durch Immunodiffusion und Immunoelektrophorese fanden RICCI et al. (87) viele Konstituenten, von denen die meisten im menschlichen Hautschuppen-, Hausstaub- und D. farinae-Extrakt vorkommen.
In seiner Untersuchung konnte AAS et al. (2) im D. pteronyssinus-Extrakt Anteile fremder Allergene, wie Pferdehaut-

schuppen / -epithelien feststellen.
Eine immunologische Kreuzreaktion zwischen Kaninchenserum-antikörpern gegen D. pteronyssinus (Gesamtkultur-Extrakt) und Antigenanteilen des menschlichen Hautschuppen-Extraktes wurde von LIND (64) nachgewiesen.

Verunreinigungen mit nicht-allergenen Komponenten, wie unbekannten Irritantien, Polysacchariden, Endotoxin, freiem Histamin oder Hämolysin (1, 18, 38) stellen weitere Probleme in der Herstellung der Allergenextrakte und in der Erhaltung ihrer Qualität dar.

In den verschiedenen Untersuchungen (55, 65, 66, 88) wurde über den Einfluß der Extraktionszeit auf den Allergengehalt der Pollen- und der xerophilen Schimmelpilz-Extrakte berichtet. Durch eine neuere Untersuchung konnten MAASCH et al. (69) am Beispiel von D. pteronyssinus-Extrakten nachweisen, daß mit längerer Extraktionszeit Inhaltsstoffe, wie Kohlenhydrate und Proteine vermehrt extrahiert wurden. Die Ergebnisse der RAST-Inhibition-Tests zeigten, daß bereits nach 5 Minuten etwa 30%, nach 1 Stunde schon über 50% der allergenen Gesamtaktivität im Extrakt vorhanden war.

Für die konstante Erhaltung allergener Potenzen von Test- bzw. Behandlungslösungen über einen längeren Zeitraum wird die Stabilität der darin enthaltenen Allergen- oder Antigenmoleküle unter entsprechenden Lagerbedingungen (Dauer, Temperatur) vorausgesetzt. Wie von CENTER et al. (26) gezeigt wurde, verloren wäßrige Gräserpollen-Extrakte während 5 Monate bei 4°C oder während 2 Monate bei 24°C Lagerung 50% ihrer Antigenaktivität. Das Konsevierungsmittel Phenol in den wäßrigen Extrakten hat wahrscheinlich durch Proteindenaturierung eine destruktive Wirkung auf das Antigen. Der Antigengehalt von gefriergetrockneten oder mit Glyzerin versetzten Gräserpollen-Extrakten oder von Aluminium-

Absorbaten der Gräserpollen-Extrakte blieb nach 15 Monaten, bei 4 °C gelagert, nur geringfügig oder nicht verändert. Vergleichbare Ergebnisse wurden von RANCOUR u. STIER (84), YUNGINGER u. GLEICH (125) und ZENNER u, KLEY (127) gefunden. Den stabilisierenden Effekt von Humanserumalbumin auf die Allergenextrakte wurde von NAERDAL u. VILSVIK (76) und NORMAN et al. (77) festgestellt.

Bei der Standardisierung von Allergenextrakten gibt es keine einheitliche und allgemein akzeptierte Methode. Die Standardisierung von Allergenextrakten nach Gewicht-Volumen-Verhältnis (w/v), Protein-Nitrogen-Gehalt (PNU-Einheit) oder Gewicht-Volumen-Verhältnis bei Pollen (Noon-Einheit) besitzt keinerlei Aussage über ihre biologische Aktivität.

Bezüglich ihrer Qualität werden die meisten kommerziellen Allergenextrakte in den Grad G bis H der Wertungsskala eingestuft (4). Dies bedeutet, daß ungereinigte Extrakte alle extrahierbaren Komponenten beinhalten, die im Ausgangsmaterial gefunden werden. Die allergene Aktivität wird weder durch relevante biologische noch Labormethoden quantifiziert. So sind Irritantien beim Grad H noch vorhanden oder beim Grad G bereits entfernt.

Auf der Suche nach einer geeigneten Methode zur Standardisierung von Allergenextrakten haben AAS et al. (5) das Skandinavische Allergen-Standard-System vorgeschlagen. Dieses System beruht auf der biologischen Mengenbestimmung des Extraktes durch Pricktests und auf dem HEP-System (Histamine Equivalent in Prick Testing) als die In-Vivo-Standardisierungsmethode. Zur präzisen Mengenabschätzung der allergenen Gesamtaktivität des Extraktes wird das System durch Radioallergosorbenttests (RAST) oder RAST-Inhibition ergänzt, die die In-Vitro-Standardisierungsmethode darstellen.

Im Rahmen der Allergenextrakstandardisierung nach der biologischen Aktivität wird für die Auswertung der Pricktestreaktionen nach dem HEP-System 0,1% Histamin-HCl als Referenz benutzt. Die biologische Potenz des Extraktes wird dabei mit der HEP-Größe gemessen.
Per definitionem besitzt ein Allergenextrakt, der die gleiche Pricktestreaktion wie 0,1% Histamin-HCl hervorruft, die biologische Aktivität von 1 HEP. Die Konzentration dieses Extraktes wird als 1000 biologische Einheiten pro ml (BU/ml) bezeichnet (5).

Der RAST, der von WIDE, BENNICH und JOHANNSON (119) eingeführt wurde, wird in der allergischen Diagnostik eingesetzt, wie z.B. für die Bestimmung des Serumsspiegels von IgE gegen verschiedene Antigene oder im Rahmen der Allergenextraktstandardisierung für die Bestimmung des allergenen Inhalts eines Extraktes. Die Bestimmung erfolgt unter Anwendung verschiedener mit spezifischen IgE (aus Patientenserumpool bei bekannter Konzentration) inkubierter Extraktverdünnungen und aktivierter Papierscheiben zur Koppelung von Antigen-Antikörper(IgE) - Komplexen sowie mit J^{125} markierter Anti-IgE, welche an die Antigen-Antikörper(IgE)-Komplexe gebunden sind.

Bezüglich des Einsatzes von Pricktests und RAST bzw. RAST-Inhibition in der Allergenextraktstandardisierung wurde von AAS et al. (4, 5) eine Reihe von Ergebnissen verschiedener Untersuchungen angeführt:
Die Quantifizierung mittels Pricktestungen bei einer begrenzten Anzahl allergischer Patienten zeigt, daß es für einen begrenzten Konzentrationsbereich und innerhalb eines bestimmten Bereiches von Quaddeldurchmessern eine gute Korrelation zwischen Quaddelgrößen und Allergenkonzentrationen gibt (14, 15, 51, 97, 111). Trotzdem ist es nicht sinnvoll die genaue absolute Größe, in mm ausgedrückt, als ein

Standardmaß für die Testreaktionen zu nehmen, da die Hautreagibilität von Patient zu Patient beträchtlich schwankt (51).
Einerseits kann Histamin als der wichtigste Mediator für die Bildung von Pricktestreaktionen (Quaddelreaktionen) betrachtet werden. Andererseits besteht eine enge Beziehung zwischen der Hautreagibilität auf Histamin und der Hautreagibilität auf Allergenextrakte (103) sowie eine gute Korrelation zwischen Histaminquaddeldurchmessern und Histaminkonzentrationen (51).

Histamin ist deshalb eine geeignete Testreferenz, weil die individuelle Hautreagibilität jedes einzelnen Patienten mit Hilfe von Histamin kontrolliert werden kann.
Bei der Pricktestung mit 1 mg/ml bzw. der Intrakutantestung mit 0,03 mg/ml Histamin werden Histaminquaddeln von geeigneten Größen erzeugt und dadurch gibt es eine bessere Möglichkeit, annähernd gleiche positive Testreaktionen wie auf Allergenextrakte zu erreichen. Dies bedeutet für die Praxis der Hauttestung, daß die Histaminreaktion, die zur Abstufung von Allergenreaktionen verwendet wird, eine minimale Größe von 4 mm und eine maximale Größe von 12 - 15 mm haben soll, um einerseits als noch adäquat gelten zu können und um andererseits eine größe Anhäufung von großen Pseudopodien zu vermeiden (51).

Pricktests haben gegenüber Intrakutantests einige Vorteile. Der Pricktest ist einfach durchzuführen und bringt wenig Belastung für Patienten. Das Risiko generalisierter anaphylaktischer Reaktionen bzw. Zwischenfälle ist bei Pricktests sehr gering.
Obwohl der Intrakutantest gegenüber dem Pricktest 1000 mal empfindlicher ist, kann durch die Anwendung einer entsprechend höheren Konzentration die gleiche Testempfindlichkeit erreicht werden (57). Der Pricktest verfügt über eine bes-

sere Korrelation mit Anamnesen, Provokationstests und spezifischen IgE (56, 81, 82, 99, 100, 101).
Der Intrakutantest kann als eine Alternative zum Pricktest eingesetzt werden, um genügend starke Pricktestreaktionen zu erzeugen. Eine genaue Bestimmung der allergenen Konzentration bzw. Aktivität kann durch die Intrakutantestungen erreicht werden. Trotzdem sollten alle kommerziellen Allergenextrakte ausreichende Konzentrationen für die Prickteststungen besitzen. Unter der Voraussetzung, daß die Technik der Intrakutan- und Pricktestung perfekt beherrscht wird, kann die Anforderung an einen hohen Grad der Genauigkeit und Reproduzierbarkeit erfüllt werden (14, 15, 39, 56, 97, 110, 111).

Durch die Bestimmung der biologischen Konzentration wird die biologischen Aktivität der Allergenextrakte unmittelbar ausgedrückt. Dies ist für den Untersucher leicht verständlich und informativ. Allerdings liegt der Nachteil dieser Methode in der Abhängigkeit von einem relativ großen Patientenkollektiv und im hohen Aufwand, der notwendig ist, um die Genauigkeit und Reproduzierbarkeit der Standardisierungsmethode (Pricktest) mit großer Sorgfalt zu sichern; und sie ist für die Batch to Batch - Kontrolle in der Allergenextraktproduktion nicht geeignet.
Für diesen Zweck wird RAST bzw. RAST-Inhibition angewandt. RAST ermöglicht es sicherzustellen, daß jedes neue Produktionsbatch die gleiche allergene Potenz wie das vorherige enthält. Es besteht eine gute Korrelation zwischen RAST und RAST-Inhibition (5, 123) sowie zwischen Pricktests und RAST (5, 6, 12, 44, 45, 82, 123, 124) bzw. RAST-Inhibition (5, 39).
Die RAST-Bestimmungsmethode gibt jedoch keinen wirklichen Aufschluß über die biologische Aktivität eines Allergenextraktes, und eine gegebene RAST-Einheit für ein Allergenpräparat zeigt nicht unbedingt eine gleiche biologische

Aktivität für ein anderes Präparat an. Erst die Kombination der beiden Standardisierungsmethoden bringt den Standardisierungszwecken annähernde Ergebnisse (5).

II. Fragestellung

Die Konzentration der meisten auf dem Markt vorhandenen Testlösungen für die Allergiediagnostik wird mit der w/v-, PNU- oder Noon-Einheit angegeben.

Gegenstand dieser Arbeit ist es, mit Hilfe des HEP-Systems (Histamine-Equivalent-in Pricktest) die einzelnen biologischen Aktivitäten der vier kommerziellen Testlösungen verschiedener Hersteller, die D. pteronyssinus - Extrakte enthalten, zu bestimmen.

Ferner soll die Frage nachgegangen werden, ob sich die ermittelten biologischen Aktivitäten der einzelnen Testlösungen nicht oder signifikant voneinander unterscheiden.

III. Patient, Material und Methode

3.1. Patienten

Im Zeitraum von Juni 1981 bis Ende Februar 1982 wurden in der Medizinischen Poliklinik des Universitätsklinikum Steglitz Berlin bei Patienten mit perennialer allergischer Rhinitis oder exogen-allergischem Asthma bronchiale anamnestische Untersuchungen und Hautpricktestungen durchgeführt.

Durch die Anamneseerhebungen wurden nur solche Patienten selektiert, welche positive Hinweise auf eine Allergie gegen Hausstaub/Hausstaubmilbe (D.pteronyssinus) lieferten (vgl. Auswahlkriterien).
Je nach den Ergebnissen der Medikamentenanamnese wurden sie anschließend oder zu einem späteren Zeitpunkt mit den D.pteronyssinus-Extrakten prickgetestet (vgl. Testlösungen und Hautpricktest).
Wenn sich bei den Patienten mit positiven Anamnesen positive Pricktestreaktionen auf D. pteronyssinus zeigten, dann waren die Auswahlkriterien für die Patienten erfüllt.

In die Untersuchungsreihe wurden insgesamt 24 Patienten, 16 Männer und 8 Frauen, aufgenommen. Ihr Alter lag zwischen 10 und 68 Jahren, mit einem Durchschnittsalter von 32,79 Jahren (Abb. 1).

In die Untersuchung wurden ebenfalls 24 gesunde Kontrollpersonen einbezogen. Es waren 9 Männer und 15 Frauen im Alter zwischen 18 und 51 Jahren. Ihr Durchschnittsalter betrug 28,75 Jahre (Abb. 1).

3.2. Auswahlkriterien für die Patienten

A. Positive Anamnese

Die anamnestischen Angaben der Patienten brachten Hinweise auf eine Inhalationsallergie gegen Hausstaubmilbe (D.pteronyssinus). In der Anamneseerhebung wurden folgende Gesichtspunkte besonders berücksichtigt (92, 126):

- Die Art der Beschwerden (Rhinitis, Asthma bronchiale oder atopische Dermatitis)

- Das perenniale (z.B. Hausstaub/-milbe) oder saisonale (z.B. Pollenallergie nur in den Sommermonaten) Auftreten der Beschwerden

- Das Auftreten der Beschwerden in (z.B. Hausstaub/-milbe) oder außerhalb der Wohnung

- Das Auftreten der Beschwerden beim Verrichten bestimmter Tätigkeiten (Bettenmachen, Staubwischen, Umgang mit verstaubten, alten Büchern oder Unterlagen)

- Das Auftreten der Beschwerden am Abend, beispielsweise im Schlafzimmer, oder morgens nach dem Aufstehen

- Abgrenzung der (nächtlichen) Asthmabeschwerden gegenüber allen Formen der obstruktiven Atemwegserkrankung oder Linksherzdekompensation

B. Positive Hautpricktestreaktion

Um eine Sensibilisierung gegen D.pteronyssinus bei den Patienten zu ermitteln, wurden Hautpricktestungen mit den D.pteronyssinus-Extrakten (Testlösungen) durchgeführt.

3.3. Testlösungen mit D. pteronyssinus - Extrakten

A. Für diese Untersuchung wurden kommerzielle Testlösungen von vier verschiedenen Herstellern zur Verfügung gestellt.
Die Milben-Präparate waren von folgenden Herstellern:

- Abello
- Allergopharma J. Ganzer KG (Reinbeck)
- Bencard / Wülffing (Neuss)
- Hollister-Stier / Tropon (Köln)

Ohne die entsprechende Reihenfolge, wie oben aufgeführt, waren die einzelnen Testlösungen jeweils mit den Buchstaben A, B, C oder D versehen.
Für die Hautpricktestungen war die Reihenfolge, in der die Testlösungen auf dem Arm aufgetragen wurden, randomisiert.

B. Um eine evtl. vorhandene erhöhte Hautreagibilität erkennen zu können, wurde eine physiologische NaCl-Lösung für den negativen Kontrolltest verwendet.

C. Als Referenz für die Histamin-Equivalent-Pricktestung bzw. für den positiven Kontrolltest wurde 0,1% (1 mg/ml) Histamin-HCl-Lösung benutzt.

3.4. Hautpricktest

Es wurde der sogenannte modifizierte Pricktest verwendet, der eine vereinfachte Form einer Intrakutantestung darstellt (89).
Dazu wurde die Haut der volaren Seite des linken Unterarmes zunächst mit Alkohol gereinigt. Danach wurde immer zwei bis drei Minuten gewartet, bis die durch die Reinigung veränderte Durchblutung der Haut ausgeglichen war, bevor im Abstand von mindestens 2,5 - 3 cm jeweils ein Tropfen der Test- und Kontrolllösungen auf die gereinigte Haut gebracht wurde.
Für die Hauttestung wurde die Einmal-Blutentnahme-Lanzette (Steril-Haemostilett, ASID) benutzt.
Bei diesem modifizierten Pricktest wurde die Einmallanzette mit der Spitze innerhalb des Tropfens flach in die Kutis eingestochen und die Spitze leicht angehoben. Es wurde darauf geachtet, daß möglichst keine nennenswerte Blutung eintrat.
Nach 15 - 20 Minuten wurden die Lösungen mit separaten, sauberen Wattetupfern abgewischt, und die Hautreaktionen abgelesen und beurteilt.

Die Erhebung der Medikamentenanamnese ergab, daß kein Patient in den letzten drei Tagen unter einer medikamentösen Therapie mit Antihistaminika, Ketotifen oder Psychopharmaka stand. Sie ergab auch, daß kein Patient mit Kortikosteroid-Präparaten behandelt worden war. Vorsichtshalber wurden zwecks dieser Untersuchung ß-Adrenergetika per os 1 Tag vor der Testung abgesetzt. Zugelassen wurde ausschließlich eine inhalative Therapie mit ß-Adrenergetika und DNCG (Dinatrium-Cromoglycat).

In Anlehnung an die Ergebnisse verschiedener Untersuchungen über den Einfluß der Medikamente auf die Hauttestreaktionen

wurden die Kriterien für die Hautpricktestung in dieser Untersuchung festgesetzt. Die Ergebnisse der Untersuchungen wurden wie folgt zusammengestellt:

Durch die Gabe von ß-Adrenergetika peroral und eine langzeitige Therapie mit Kortikosteroiden mußte mit einer Abschwächung der Hauttestreaktion gerechnet werden. ß-Adrenergetika p.o. sollten einen Tag vor der Hauttestung abgesetzt werden (24). Eine geringe Hemmung der Intrakutantestreaktion wurde durch die perorale Applikation von 5 mg Terbutalin (46) oder 200 mg Theophyllin (37) registriert.

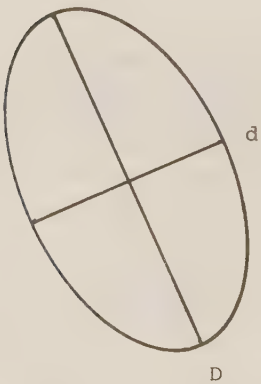
Andere Untersuchungen haben jedoch gezeigt, daß eine wesentliche Unterdrückung der Hauttestreaktion (Intrakutantest) durch die Gabe von Kortikosteroiden in einer therapeutischen Dosierung, z.B. 40 mg Prednison p.o. (41), 24 mg Methylprednisolon p.o. (94) bzw. 100 mg Prednisolon i.v., 20mg Fluorcortolon p.o., 40 mg Triamnicolon i.m. (102) sowie 12 - 24 mg Prednyliden p.o. (86) nicht gegeben ist.
Das gleiche Resultat wurde durch die perorale Gabe von ß-Adrenergetika mit einer Dosis von 15 mg Terbutalin (8, 27), 0,4 mg/kg KG Fenoterol (95) oder 12 - 20 mg/kg KG Theophyllin (8, 27, 95) festgestellt.
Dagegen beeinflußen die inhalative Therapie mit ß-Adrenergetika und bis zu 80 mg DNCG (Dinatrium Cromoglycat) die Testreaktion nicht. 3 Tage vor der Hauttestung sollten Ketotifen und Antihistaminika einschließlich Psychopharmaka abgesetzt werden (33).

3.5. Bestimmung der biologischen Aktivität nach dem HEP-System

Entgegen der bisher üblichen Beurteilung der Quaddel- und Erythemgröße wurde in die Ermittlung der biologischen Aktivität der Testlösungen ausschließlich die Quaddelgröße bzw. der mittlere Quaddeldurchmesser einbezogen. Die Erythemreaktion wird von AAS (3) als zu variabel befunden und wird deshalb als ungeeignet für die Bestimmung der biologischen Aktivität erachtet.

Dazu wurde der mittlere Quaddeldurchmesser des jeweiligen D. pteronyssinus-Extraktes in Relation zum korrespondierenden mittleren Quaddeldurchmesser des Referenzhistamins (0,1% Histamin-HCl) gesetzt. Daraus wurde die biologische Potenz, die in HEP ausgedrückt wurde, ermittelt. Die Reaktionsstärke wurde durch Pluszeichen gekennzeichnet.

Der mittlere Quaddeldurchmesser des Extraktes und des Referenzhistamins wurde wie folgt berechnet:



$$D_m = 1/2\ (D+d)$$

D = der größte Durchmesser

d = der senkrecht zu D stehende Durchmesser

Die biologische Potenz bzw. die biologische Aktivität des Extraktes wurde nach folgender Formel ermittelt:

$$A = \frac{D_Q}{D_H}$$

A = die biologische Potenz des Extraktes (in HEP)

D_Q = der mittlere Quaddeldurchmesser des Extraktes

D_H = der mittlere Quaddeldurchmesser des Referenzhistamins

Ein Extrakt, das die gleiche Pricktestreaktion wie das Referenzhistamin hervorrief, besaß die biologische Potenz von 1 HEP und die Reaktionsstärke von 3(+).

Für die sich daraus ergebende weitere Beurteilung der Reaktionsstärke wurden die Pluszeichen 1(+), 2(+) und 4(+) verwendet, wobei ein weiteres Pluszeichen bzw. eine Reduzierung eines Pluszeichens eine Verdopplung bzw. eine Halbierung der Quaddelgröße (des mittleren Quaddeldurchmessers) des Extraktes - bezogen auf die Quaddelgröße (den mittleren Quaddeldurchmesser) des Referenzhistamins - bedeutet.
Die Reaktionsstärke 2(+) ist nach Ansicht von AAS (3) aus immunologischer Sicht in der Regel noch spezifisch. In dieser Untersuchung wurde jedoch ausschließlich die Reaktionsstärke, die größer/gleich 3(+) war, als noch "positiv" bezeichnet.

3.6. Statistische Auswertung

Für diesen Zweck wurden zwei statistische Methoden, die Rangvarianzanalyse nach Friedman (Friedman-Test) und die multiplen Vergleiche abhängiger Stichproben nach Wilcoxon und Wilcox, angewandt (SACHS, 90).

Der Friedman-Test ist ein Homogenitätstest. Mit Hilfe dieses Verfahrens wurde geprüft, ob signifikante Unterschiede zwischen den Stichproben in der Grundgesamtheit vorhanden waren bzw. ob die Stichproben aus der gleichen Grundgesamtheit stammen konnten.
Dazu wurden in die Zeilen die Nummer der entsprechenden Patienten und in die Spalten die Nummer der entsprechenden Testlösungen eingetragen. Innerhalb der jeweiligen Zeilen wurden aus den Testwerten, die von den Patienten und Testlösungen zusammengesetzt wurden, die Rangzahlen (Spaltenreihe und -ordnung) gebildet.
Anhand folgender Formel wurde die Prüfgröße $\dot{\chi}^2_R$ berechnet:

$$\dot{\chi}^2_R = \left[\frac{12}{nk(k+1)} \sum_{i=1}^{k} R_i^2\right] - 3n(k+1)$$

wobei,

n = Anzahl der Patienten in der Zeilenreihe (n = 24)

k = Anzahl der Testlösungen in der Spaltenreihe (k = 4)

$\sum_{i=1}^{k} R_i^2$ = Summe der Quadrate der Spaltenrangsummen für die k zu vergleichenden Testlösungen

Waren Bindungen (d.h. gleiche Meßwerte), welche innerhalb einer Zeile nicht zulässig sind, vorhanden; wurde eine Korrektur nach folgender Formel vorgenommen:

$$\dot{\chi}^2_{R,B} = \left\{n\left[n - \frac{1}{k^3-k}\left(\sum_{i=1}^{n}\sum_{j=1}^{r_i}(t_{ij}^3 - t_{ij})\right)\right]\right\} \cdot \dot{\chi}^2_R$$

wobei,

r_i = Anzahl der Bindungen bzw. der Gruppe ranggleicher Werte (j=1 bis j=r_i) innerhalb der i-ten Zeile

t_{ij} = Vielfachheit ranggleicher Werte der j-ten Bindung in der i-ten Zeile

Anhand des Vergleiches der Prüfgröße χ^2_R bzw. der korrigierten Prüfgröße $\hat{\chi}^2_{RB}$ mit den Schwellenwerten aus den 5%-, 1%- oder 0,i%-Schranken-Tabellen (90) konnte der Frage nach der Homogenität der Grundgesamtheit der Stichproben nachgegangen werden.

Welche Testlösungen untereinander signifikante bzw. zufällige Unterschiede aufwiesen, wurde mit den multiplen Vergleichen nach Wilcoxon und Wilcox untersucht.
Dazu wurden die Rangzahlen der einzelnen Testlösungen (in den Spalten 1 - 4) addiert. Die Spaltenrangsummen wurden dann paarweise miteinander verglichen. Daraus wurden die Differenzen innerhalb der einzelnen Paare berechnet. Durch den Vergleich dieser Differenzwerte mit dem Wert der kritischen Differenz aus den entsprechenden Tabellen (auf dem 5%-, 1%- oder 0,1%-Niveau) (90) konnte geprüft werden, ob die Unterschiede zwischen den einzelnen Paaren als signifikant oder als zufällig galten.

IV. Ergebnis

Die Altersverteilung der 24 Patienten und der 24 Kontrollpersonen wird in der Abb.1 graphisch dargestellt. Das Durchschnittsalter der Patienten betrug 32,75 Jahre.

In der Tab.1 werden die Patienten nach Symptomen und Geschlecht zusammengestellt. Insgesamt 14 (58,33%) Patienten, 11 Männer und 3 Frauen, hatten allergische Rhinitis und 10 (41,67%) Patienten, 5 Männer und 5 Frauen, exogen-allergisches Asthma bronchiale.

Das Ergebnis der Pricktestungen (Quaddel- und Erythemgrößen) mit den 4 Testlösungen und dem Referenzhistamin wird in der Tab.2 zusammengestellt. Die Pricktestungen bei den 24 Kontrollpersonen brachten negative Quaddel- und Erythemreaktionen auf die 4 Testlösungen.
Ebenfalls negative Hautreaktionen auf die physiologische NaCl-Lösung lieferten die Pricktestungen bei allen Patienten und Kontrollpersonen.

In die Auswertung nach dem HEP-System wurden nur die Quaddelreaktionen aufgenommen. Aus der Zusammenstellung der Patienten nach Geschlecht, Alter, Diagnose, der Stärke der Pricktestreaktion (nach Pluszeichen) und dem HEP-Wert ergibt sich eine Übersicht in der Tab.3.

Die Beurteilung der Reaktionsstärke nach Pluszeichen hat die unterschiedliche Häufigkeitsverteilung der positiven Pricktestreaktionen auf die einzelnen Testlösungen verdeutlicht (Tab.4). Demzufolge betrug der Anteil der Patienten, die die Reaktionsstärke $\geq 3(+)$ zeigten, bei der Testlösung C 79,16% (19 Patienten). Bei der Testlösung A waren dies 70,83% (17 Patienten), bei der Testlösung B 58,33% (14 Patienten) und bei der Testlösung D

37,50% (9 Patienten). Die gleiche Reihenfolge wurde bei der Bestimmung der biologischen Potenz der Testlösungen gefunden. Danach besaß die Testlösung C mit dem durchschnittlichen HEP-Wert von 1,2 die größte biologische Potenz. Der durchschnittliche HEP-Wert von der Testlösung A betrug 1,0 und der von der Testlösung B 0,8. Mit dem durchschnittlichen HEP-Wert von 0,5 erwies sich die Testlösung D als die Testlösung mit der schwächsten biologischen Potenz (Tab.4 und 5A).

Dieses Verhältnis wurde durch das Ergebnis der Bestimmung der durchschnittlichen mittleren Quaddeldurchmesser bestätigt. Die Testlösung C hatte mit dem durchschnittlichen mittleren Durchmesser (mD = 5,5 mm) die höchste Quaddelgröße, auf die mit abnehmender Größe die Testlösungen A (mD = 4,6 mm), B (mD = 3,8 mm) und D (mD = 2,3 mm) folgten (Tab.5A).
Bei den Pricktestungen mit dem Referenzhistamin wurde der durchschnittliche mittlere Quaddeldurchmesser von 4,8 mm, mit s = 0,8 mm (= 16,66%) erreicht (Tab.5A).

Der statistische Vergleich nach dem Friedman-Test (Tab.5A und 5B) brachte eine signifikante Differenz in der Grundgesamtheit sowohl zwischen den Quaddelgrößen der vier Testlösungen und der Histaminlösung auf dem 0,1%-Niveau ($p < 0,001$) als auch zwischen den HEP-Werten auf dem 0,1% Niveau ($p < 0,001$).

Wurden die statistischen, multiplen Vergleiche nach Wilcoxon und Wilcox zwischen den Durchschnittsgrößen der einzelnen mittleren Quaddeldurchmesser angestellt (Tab.6A), so ergaben sich folgende Unterschiede zwischen den Testlösungen:

A, C	und	D,	mit	$p < 0,01$
B	und	C,	mit	$p < 0,05$

B	und	D,	$p < 0,05$
A	und	C,	$p < 0,10$
A	und	B,	$p < 0,10$

Da eine signifikante Differenz nur auf dem 1%- Niveau ($p \leq 0,01$) und auf dem 5%-Niveau ($p \leq 0,05$) bestätigt werden kann, war daraus zu folgern, daß der signifikante Unterschied nur zwischen den Testlösungen:

A, B, C	und	D
B	und	C

zu finden war.

Das gleiche Ergebnis wurde bei den multiplen Vergleichen nach Wilcoxon und Wilcox zwischen den HEP-Werten der Testlösungen festgestellt (Tab.6A).

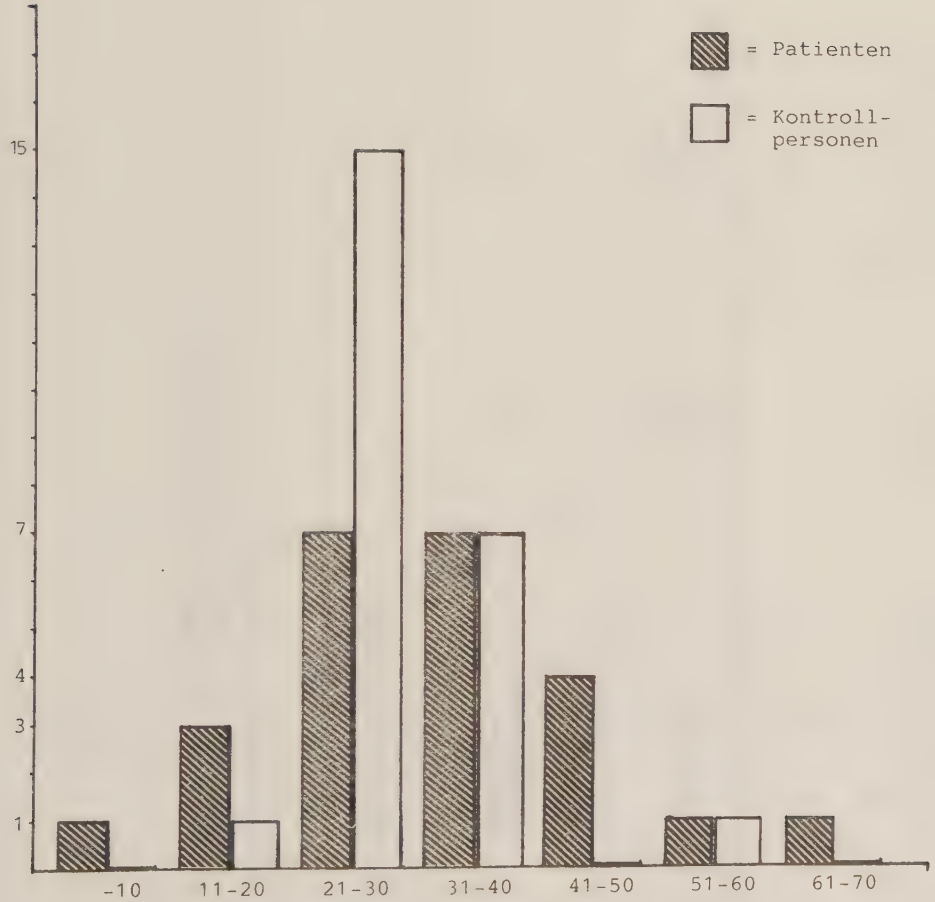


Abb. 1. Altersverteilung der Patienten (n=24) und der Kontrollpersonen (n=24)

Symptome	Männer (n=16)	Frauen (n=8)
Allergische Rhinitis	11	3
Exogen-allergisches Asthma bronchiale (Extrinsic Asthma bronchiale)	5	5

Tab. 1. Zusammenstellung der Patienten (n=24) nach Symptomen und Geschlecht.

Pat.	Q_A	Q_B	Q_C	Q_D	Q_H	E_A	E_B	E_C	E_D	E_H
1.	7	7	6	4	4	20	30	25	20	12
2.	-	-	4	-	5	-	-	7	-	10
3.	6	4	5	3	5	3	4	5	5	15
4.	6	5	8	4	6	7	15	30	4	20
5.	8	7	12	4	5	19	18	30	12	20
6.	2	1	2	2	6	14	17	21	10	15
7.	8	6	8	6	5	30	30	26	20	12
8.	2	2	2	1	5	25	23	30	-	22
9.	11	7	10	3	4	20	22	22	-	16
10.	3	5	6	2	5	10	-	7	-	17
11.	4	6	8	2	4	-	-	15	-	15
12.	3	2	2	2	4	-	-	5	-	25
13.	5	2	5	2	6	30	25	32	15	23
14.	4	2	5	2	5	30	25	25	20	22
15.	1	2	3	1	5	4	6	6	-	7
16.	2	2	2	1	5	13	20	22	9	12
17.	-	-	2	-	5	18	6	13	3	20
18.	6	5	7	3	4	23	20	25	12	17
19.	5	4	5	1	4	13	9	16	-	14
20.	2	4	4	1	4	-	-	-	-	-
21.	7	7	8	3	5	-	-	-	-	-
22.	5	3	4	2	6	-	-	-	-	-
23.	9	5	10	4	5	-	-	-	-	-
24.	4	3	4	2	5	-	-	-	-	-

Tab. 2. Quaddel- und Erythemgrößen (alle Angaben in mm)

G=Geschlecht Al.=Alter A=Asthma bronchiale R=Rhinitis

Pat.	G	Al. (Jahr)	Sympt.	Pricktestreaktion				HEP			
				A	B	C	D	A	B	C	D
1.	w	46	A	3+	3+	3+	3+	1,75	1,75	1,50	1,00
2.	m	37	R	0	0	3+	0	0	0	0,80	0
3.	m	44	R	3+	3+	3+	3+	1,20	0,80	1,00	0,60
4.	m	38	A	3+	3+	3+	3+	1,00	0,83	1,33	0,66
5.	w	38	A	3+	3+	4+	3+	1,60	1,40	2,40	0,80
6.	m	20	A	2+	0	2+	2+	0,33	0,16	0,33	0,33
7.	w	38	R	3+	3+	3+	3+	1.60	1,20	1,60	1,20
8.	m	18	R	2+	2+	2+	1+	0,40	0,40	0,40	0,20
9.	w	37	A	4+	3+	4+	3+	2,75	1,75	2,50	0,75
10.	w	68	A	3+	3+	3+	2+	0,60	1,00	1,20	0,40
11.	w	25	R	3+	3+	4+	2+	1,00	1,50	2,00	0,50
12.	m	32	R	3+	2+	2+	2+	0,75	0,50	0,50	0,50
13.	m	47	A	3+	2+	3+	2+	0,83	0,33	0,83	0,33
14.	m	27	A	3+	2+	3+	2+	0,80	0,40	1,00	0,40
15.	m	42	A	1+	2+	3+	1+	0,20	0,40	0,60	0,20
16.	m	57	R	2+	2+	2+	1+	0,40	0,40	0,40	0,20
17.	w	24	A	0	0	2+	0	0	0	0,40	0
18.	m	18	R	3+	3+	3+	3+	1,50	1,25	1,75	0,75
19.	m	10	R	3+	3+	3+	1+	1,25	1,00	1,25	0,25
20.	m	31	R	2+	3+	3+	1+	0,50	1,00	1,00	0,25
21.	w	22	R	3+	3+	3+	3+	1,40	1,40	1,60	0,60
22.	m	23	R	3+	2+	3+	2+	0,83	0,50	0,66	0,33
23.	m	23	R	3+	3+	4+	3+	1,80	1,00	2,00	0,80
24.	m	22	R	3+	3+	3+	2+	0,80	0,60	0,80	0,40

Tab. 3. Übersicht über die 24 getesteten Patienten hinsichtlich Patientendaten, Diagnose , Pricktestreaktion und biologischer Potenz.

Test-lösung	n=	HEP	0	1(+)	2(+)	3(+)	4(+)
						3(+)	
A	24	1,0	2	1	4	16 (66,66%)	1 (4,16%)
B	24	0,8	3	-	7	14 (58,33%)	-
C	24	1,2	-	-	5	15 (62,50%)	4 (16,66%)
D	24	0,5	2	5	8	9 (37,50%)	-

Tab. 4. Übersicht über die biologischen Potenzen (in HEP) und die Verteilung der einzelnen Reaktionsstärken der Testlösungen (nach der HEP-Methode).

Quaddeln	mD	s
Testlösung A	4,6 mm	± 2,5
Testlösung B	3,8 mm	± 1,9
Testlösung C	5,5 mm	± 2,9
Testlösung D	2,3 mm	± 1,6
Histamin	4,8 mm	± 0,8

Tab. 5A. Durchschnittliche mittlere Durchmesser der Extrakt- und Histaminquaddeln ($p<0,001$).

Biologische Potenz	HEP
Testlösung A	1,0
Testlösung B	0,8
Testlösung C	1,2
Testlösung D	0,5

Tab. 5B. Biologische Potenzen der Testlösungen ($p<0,001$).

	Quaddel A (4,6 mm)	Quaddel B (3,8 mm)	Quaddel D (2,4 mm)
Quaddel C (5,5 mm)	12*)	29,5***)	52,5***)
Quaddel A (4,6 mm)	-	17,5*)	40,5***)
Quaddel B (3,8 mm)	-	-	23**)

Tab. 6A. Multiple Vergleiche der einzelnen Testlösungen hinsichtlich ihrer Quaddelgrößen (Reaktionsstärke)

***) $p \leq 0{,}01$, sD

**) $p < 0{,}05$, sD

*) $p < 0{,}10$, nS

	HEP A (1,0)	HEP B (0,8)	HEP D (0,5)
HEP (1,2)	12*)	29,5***)	52,5***)
HEP (1,0)	-	17,5*)	40,5***)
HEP (0,8)	-	-	23**)

Tab. 6B. Multiple Vergleiche der einzelnen Testlösungen hinsichtlich ihrer HEP-Größen (biologische Potenzen)

(Erläuterungen wie in Tab. 6A)

V. Diskussion

Beim Auftreten allergischer Rhinitis oder exogen-allergischen Asthma bronchiale mit perennialem Charakter, besonders im häuslichen Milieu, sollte man an die Möglichkeit einer Sensibilisierung gegen Hausstaub bzw. Hausstaubmilben denken. Wie aus den Ergebnissen dieser Arbeit zu entnehmen ist, zeigten je nach den verwendeten Lösungen 37,5 - 79,16% der allergischen Patienten mit Rhinitis oder Asthma bronchiale positive Testreaktionen auf D. pteronyssinus.
In diesem Zusammenhang berichteten van de LUSTGRAAF et al. (68) aus der Zusammenstellung der Literaturangaben, daß aus Hauttestungen mit den Extrakten verschiedener autochtoner und allochtoner Organismen aus Hausstaub bei allergischen Personen eine positive Reaktion auf D. pteronyssinus mit einer Häufigkeit von 22 - 100% festgestellt wurde.

STENIUS (99) fand bei 58% der 31 Patienten mit allergischer Rhinitis, die positive Intrakutantestungen auf Hausstaub aufwiesen, positive Pricktestreaktionen auf D. pteronyssinus. Eine signifikante Korrelation der Pricktestreaktionen mit spezifischen IgE gegen D. pteronyssinus im Patientenserum wurde festgestellt.

In einer Studie über die Beziehung von saisonalem Asthma (in den warmen und regnerischen Monaten) und Sensibilisierungen gegen diverse Inhalationsallergene bei Patienten mit Verdacht auf eine Hausstauballergie im tropischen Afrika (Rhodesien) wiesen COOKSON und MAKONI (28) darauf hin, daß saisonales Asthma in dieser Region hauptsächlich durch D. pteronyssinus hervorgerufen wird. Graspollen- und Schimmelpilzallergie waren für die Asthmabeschwerden weniger relevant.

In einer anderen Untersuchung haben COOKSON et al. (29) bei 88,70% der insgesamt 80 afrikanischen Asthmapatienten deutlich positive Pricktests auf D. pteronyssinus festgestellt. Weniger als 50% der Patienten reagierten positiv auf Gras- und Baumpollen, Cladosporium, Aspergillus, Alternaria, Katzen- und Hundeepithel. Die Korrelation der Pricktestreaktion mit spezifischen Serum-IgE gegen D. pteronyssinus war bei 78,5% der Patienten signifikant hoch.

Wie von DEWDNEY et al. (34) in einer klinischen Untersuchung und Umweltanalyse der Aeroallergene auf den Bermudainseln berichtet wurde, zeigten 73% der Patienten mit perennialer Rhinitis und Asthma positive Pricktestreaktionen auf D. pteronyssinus-Extrakte, nur 30% auf Mischpollen-Extrakte und 10% auf Schimmelpilz-Extrakte. In diesem Zusammenhang wurde auf das Vorhandensein von D. pteronyssinus in allen Hausstaubproben und in 63% der totalen Milbenpopulation sowie den geringen Pollengehalt im ganzen Jahr hindurch auf den Inseln hingewiesen.

Die Ergebnisse der Hautpricktestungen und der Bestimmung der Serum-IgE durch RAST, die von TURNER, SUMARMO und MATONDANG-SIAHAAN (106) bei 45 Kindern mit allergischer Rhinitis und Asthma bronchiale in Indonesien durchgeführt wurden, ließen die Schlußfolgerung zu, daß die Sensibilisierung gegen D. pteronyssinus der Grund für Bronchialasthma und allergischer Rhinitis bei indonesischen Kindern war.

Trotz dieser Ergebnisse sollte die Bedeutung von D. pteronyssinus für die Hausstauballergie nicht überbewertet werden. PEARSON und CUNNINGTON (80) stellten einen hohen Anteil der Asthmapatienten auf Barbados fest, die bei einer vorhandenen Hausstaubsensibilisierung positiv sowohl auf D. pteronyssinus und D. farinae als auch auf die Speicher-

milben (Acarus siro, Tyrophagus putrescentiae, Glyphagus destructor und Glyphagus domesticus) reagierten.

Das Ergebnis der Pricktestungen in dieser Arbeit zeigt, daß die Testreaktionen auf die vier kommerziellen Testlösungen unterschiedlich ausfallen. Der Unterschied zwischen den Testlösungen beschränkt sich nicht nur auf die Hauttestreaktionen. Entsprechend ihren Reaktionsstärken weisen die Testlösungen einen graduell quantitativen Unterschied der biologischen Potenz auf. Während die Testlösungen von zwei Herstellern (A und B) im mittelstarken Bereich liegen, zählt die Testlösung des dritten Herstellers (C) zu der stärksten und die des vierten Herstellers (D) zu der schwächsten.

Auf Grund ihrer relativen allergenen Aktivität, können Allergene aus jeder Quelle in größere (MG 20.000 - 40.000) und kleinere (MG 3.000 - 70.000) Allergene unterteilt werden (59,117). Wenn die Testlösung eine hohe Konzentration solcher Allergene enthält, kann es bei allergischen Patienten zu einer starken Testreaktion, die mit dem aktuellen Sensibilisierungsgrad nicht im Zusammenhang steht, oder zu einer falsch-positiven Reaktion bei nicht-sensibilisierten Personen führen.
Eine falsch-positive Reaktion kann ebenfalls durch die Verunreinigung der Allergenextrakte mit hochmolekularen Substanzen (z.B. Endotoxin), freiem Histamin oder niedermolekularen dialysierbaren Irritantien (Proteine mit niedrigem Molekulargewicht) hervorgerufen werden. Der osmotische Druck und der pH-Wert der Testlösung, Lösungsmittel / -zusätze wie Phenol, Glyzerin oder Merthiolate können durch die unspezifisch-positive Reaktion das Ergebnis der Hauttestung beeinflussen (48).
Seitens der Patienten können im Fall einer positiven Testreaktion verschiedene Sensibilisierungszustände berück-

sichtigt werden. Es kann jeweils eine entweder klinisch-aktuelle (pathogene), überschwellige (latente), unterschwellige (prophetische), überstandene (klinisch symptomlose) oder apathogene (non-clinical allergy) Sensibilisierung vorliegen (24).

Die Hauttestung mit der schwach konzentrierten Testlösung, wie z.B. der Testlösung D kann durch eine falsch-negative Reaktion zu einer Fehlinterpretation des Testresultats führen. Dadurch kann der Zustand einer aktuellen Sensibilisierung bei dem untersuchten Patienten übersehen werden. Wird bei der Hauttestung ein negatives Testergebnis nachgewiesen, können bei Patienten folgende Gründe vorhanden sein (24): Es liegt keine Sensibilisierung vor. Die Hautreaktion ist infolge fehlenden Allergenkontaktes abgeklungen. Der Patient befindet sich in einem frühen Stadium der Sensibilisierung. Eine lokale Antikörperfixierung im Schockorgan hat stattgefunden. Es stellt sich eine Mastzellenerschöpfung nach schwerer allergischer Reaktion oder ein Zustand nach einer Hyposensibilisierung ein. Die Hauttestung erfolgt unter dem Einfluß von Medikamenten oder bei einem schlechten Reaktionsvermögen der Haut.

In der vorliegenden Arbeit konnte nachgewiesen werden, daß einige kommerzielle D. pteronyssinus-Extrakte verschiedener Hersteller nicht die gleiche biologische Aktivität besitzen. Ausschließlich zwischen den Testlösungen C und A sowie zwischen den Testlösungen A und B wurde hinsichtlich ihrer biologischen Aktivität keine signifikante Differenz festgestellt. Wie VANTO et al. (107) in ihrer Untersuchung gezeigt haben, bestanden zwischen den kommerziellen Hundeepithel-Extrakten verschiedener Hersteller mit den bisherigen Konzentrationsangaben (w/v-, PNU- oder %-Einheit) ein deutlicher Unterschied in Bezug auf ihre Reaktionsstärke und ihre biologische Aktivität/Potenz. Solche Unterschiede wurden eben-

falls zwischen den von demselben Hersteller stammenden Extrakten von zwei verschiedenen Batches gefunden, die die gleiche Konzentration (0,5%) hatten.
Das gleiche Ergebnis wurde von AAS et al. (7) und HAAHTELA et al. (49) in ihren Untersuchungen über die Korrelation zwischen den Extraktkonzentrationen, ausgedrückt in der PNU/ml-, v/w- oder %-Einheit, und der biologischen Aktivität, gemessen in der HEP-Einheit, gefunden.

Werden solche Allergenextrakte, die nicht nach der biologischen Aktivität standardisiert werden, in der Allergiediagnostik eingesetzt; ist es für den Untersucher, der die Hauttestungen durchführt und die Testergebnisse beurteilt, schwer möglich, die tatsächliche biologische Potenz und die tatsächliche Reaktionsstärke der Allergenextrakte richtig einzuschätzen und die gleichen Allergenextrakte verschiedener Hersteller bzw. verschiedener Batches desselben Herstellers miteinander zu vergleichen. Die Fehlinterpretation der Testbefunde bzw. der Sensibilisierungsgrade allergischer Patienten ist die denkbar mögliche Folge. Außerdem wird dadurch die richtige Auswahl der Allergenextrakte zum diagnostischen Zweck für den Untersucher nicht gerade erleichtert.

Zusammenfassend können aus den Ergebnissen dieser Arbeit folgende Konsequenzen gezogen werden:

1. Um eine objektive Beurteilung der Testergebnisse erhalten zu können, sollte der Untersucher, der die Hauttestung durchführt und das Ergebnis beurteilt, langfristig über einen gewissen Zeitraum mit einem und demselben Präparat arbeiten.

2. Wenn bei einem Patienten eine Hyposensibilisierungstherapie durchgeführt wird, sollten die diagnostische Hauttestung vor der Therapie und die Nachtestung als Kontrolle

des Therapieerfolges beim Patienten mit einer und derselben Testlösung erfolgen.

3. Angesichts der Tatsache, daß die meisten kommerziellen Allergenextrakte von unzureichender Qualität sind, müssen höhere Anforderungen an die Hersteller gestellt werden. Es müssen seitens der Hersteller noch mehr Anstrengungen unternommen werden, damit die geforderten Qualitätskriterien, d.h. die Extraktreinheit, die Charakterisierung und die Stabilität der Allergenmoleküle sowie die Extraktstandardisierung erfüllt werden.
   Besonders in der Frage der Standardisierung bedarf es der Notwendigkeit, die Allergenextrakte nach der biologischen Aktivität zu standardisieren.
   Letztendlich müssen die Patienten die nachteiligen Folgen der Anwendung solcher Allergenextrakte tragen. Schon aus ethischen Gründen ist dies nicht zu verantworten.

VI. Zusammenfassung

Bei 24 Rhinitis- und Asthmapatienten mit einer Allergie gegen Hausstaubmilben (D. pteronyssinus) wurden Hautpricktestungen mit vier kommerziellen D. pteronyssinus-Extrakten verschiedener Hersteller durchgeführt.
Mit Hilfe der Histamine-Equivalent-in Prick Testing (HEP)-Methode wurden die Reaktionsstärke und die biologische Aktivität der vier Testlösungen ermittelt. Anschließend wurden die Testergebnisse statistisch ausgewertet.

Die Untersuchungsergebnisse haben gezeigt, daß die Testlösung eines Herstellers (C) die stärkste Reaktion und die höchste biologische Potenz (HEP von 1,2) besaß. Mit abnehmender Größe folgten die Testlösungen A (HEP von 1,0), B (HEP von 0,8) und D (HEP von 0,5). Die schwächste Testlösung (D) unterschied sich ganz deutlich von den drei übrigen. Ebenfalls wurde ein signifikanter Unterschied zwischen den Testlösungen B und C festgestellt.

Aus dieser Untersuchung wurde deutlich, daß die kommerziellen Testlösungen mit dem gleichen Allergenextrakt, die nach der bisherigen Methode (%-, PNU- oder w/v-Einheit) standardisiert werden, nicht immer die gleiche Reaktionsstärke bzw. die gleiche biologische Aktivität zeigen. Bei der Anwendung solcher Allergenextrakte in der Allergiediagnostik kann eine Fehldiagnose nicht ausgeschlossen werden.
Deshalb sollten folgende Konsequenzen für die Praxis der Allergiediagnostik gezogen werden:

1. Der Untersucher, der die Hauttestung durchführt und das Testergebnis beurteilt, sollte langfristig über einen gewissen Zeitraum mit einem und demselben Präparat arbeiten.

2. Bei einer Hyposensibilisierungstherapie sollten die diagnostische Hauttestung vor und die Kontrolltestung nach der Behandlung mit demselben Präparat erfolgen.

3. Die unzureichende Qualität der meisten kommerziellen Allergenextrakte stellt wegen der mit ihr verbundenen Nachteile für den Patienten eine ethische Problematik dar. Aus diesem Grunde muß die Forderung an die Hersteller gestellt werden, daß mehr Anstrengungen unternommen werden, damit die geforderten Qualitätskriterien (d.h. die Reinheit, die Charakterisierung, die Stabilität und die Standardisierung der Allergenextrakte) erfüllt werden. Besonders in der Frage der Standardisierung bedarf es der Notwendigkeit, daß die Allergenextrakte nach der biologischen Aktivität standardisiert werden.

VII. Literaturverzeichnis

1. Aas, K.: Clinical and experimental aspects of standardization and purification of allergen. Int. Arch. Allergy appl. Immunol. 49 (1975), 44-45.

2. Aas, K.: Horse Dander Allergens in a House Dust Mite Extract. Allergy 36 (1981), 433-434.

3. Aas, K.: Some Variables in Skin Prick Testing. Allergy 35 (1980), 250-252.

4. Aas, K.: Standardization of allergen extracts. Dev. Biol. Stand. 29 (1975), 341-351.

5. Aas, K.; A. Backman; L. Belin; B. Weeke: Standardization of allergen extracts by appropriate methods. The combined use of skin prick testing and radio-allergosorbent tests. Allergy 33 (1978), 130-137.

6. Aas, K.; L. Belin: Standardization of diagnostic work in allergy. Acta Allergol. 27 (1972), 439-468.

7. Aas, K.; J. Leegaard; L. Aukrust; Ø. Grimmer: Immediate Type Hypersensitivity to Common Moulds. Comparison of Different Diagnostic Materials. Allergy 35 (1980), 443-451.

8. Abramowitz, P.W.; M.M. Perez; C.E. Johnson; J.A. Mc Lean: Effect of theophylline, terbutaline and their combination on the immediate hypersensitivity skin-test reaction. J. Allergy clin. Immunol. 66 (1980), 123-128.

9. Alani, M.D.; N. Haarløv: The house-dust mite: A possible source of allergen in the enviroment of patients with

atopic dermatitis. J. Nat. Med. Ass. 64 (1972), 302-304.

10. Alani, M.; N. Hjorth: Sensitivity to house-dust mites in atopic dermatitis. Acta Allergol. 25 (1970), 41-47.

11. Amoli, K.; A.M. Cunnington: House dust mites in Iran. Clin. Allergy 7 (1977), 93-101.

12. Arbesman, C.E.; J.I. Wypych; R.E. Reisman: Evaluation of RAST inhibition as a method for standardization of ragweed pollen extracts. Int. Arch. Allergy 53 (1977), 310-318.

13. Arlian, L.G.; R.L. Brandt; R. Bernstein: Occurence of house dust mites, Dermatophagoides spp. (Acari: Pyroglyphidae) during the heating season. J. Med. Entomol. 15 (1978), 35-42.

14. Becker, E.l.; B.Z. Rappaport: Quantitative studies in skin testing. II. The form of the dose-response curve utilizing a quantitative response. J. Allergy 19 (1948), 317-328.

15. Belin, L.: Immunological analysis of birch pollen antigens with special reference to the allergenic components. Int. Arch. Allergy appl. Immunol. 42 (1972), 300-322.

16. Berrens, L.: Laboratory diagnosis of the atopic condition: Evaluation of a possible method based on human serum complement consumption. Acta Allergol. 30 (1975), 169-183.

17. Berrens, L.; J.E.M.H. van Bronswijk; E. Young; A.G. van Dijk: A controlled study of allergen production in cultures of Dermatophagoides pteronyssinus. Acta Allergol. 30 (1975), 390-410.

18. Berrens, L.; A.G. van Dijk: Physiochemical and immunochemical quantitation of of house dust allergens. Dev. Biol. Stand. 29 (1975), 54-67.

19. Blythe, M.E.: Some aspects of the ecological study of the house dust mites. Brit. J. Dis. Chest 70 (1976), 3-31.

20. Blythe, M.E.: Study of Dust Mites in three Birmingham Hospitals. Brit. Med. J. 1 (1975), 62-64.

21. Bronswijk, J.E.M.H. van: Hausstaub-Ökosytem und Hausstaub-Allergen. Acta Allergol. 27 (1972), 219-228.

22. Bronswijk, J.E.M.H. van: Hausstaubmilben, Vorkommen und Bedeutung. Allergologie 1 (1978), 55-60.

23. Bronswijk, J.E.M.H. van; R.N. Sinha: Pyroglyphid mites (Acari) and house dust allergy. J. Allergy 47 (1971), 31-52.

24. Bruchhausen, D.: Prick- und Intrakutantest in der Praxis. Allergologie 2 (1979), 218-222.

25. Carlsen, D.; B. Weeke; H. Lowenstein: Analysis of Antigens in a Commercial House-Dust Extract by Means of Quantitative Immunoelectrophoresis. Allergy 34 (1979), 155-165.

26. Center, J.G.; N. Shuller; L.D. Zeleznick: Stability of antigen E in commercially prepared ragweed pollen extracts. Dev. Biol. Stand. 29 (1975), 114-122.

27. Chipps, B.E.; A.K. Sobotka; J.P. Sanders; K.C. Teets; P.S. Norman; L.M. Lichtenstein: Effects of theophylline

and terbutaline on immediate skin tests. J. Allergy clin. Immunol. 65 (1980), 61-64.

28. Cookson, J.B.; G. Makoni: Seasonal asthma and the house-dust mite in tropical Afrika. Clin. Allergy 5 (1975), 375-380.

29. Cookson, J.B.; J.Merret; T.G. Merret: Identification of allergen-spezific IgE antibodies in the sera of African asthmatics. Clin. Allergy 6 (1976), 395-398.

30. Coomb, R.R.A.; P.G.H. Gell: Classification of allergic reactions responsible for clinical hypersensitivity and disease. In: Gell, P.G.H.; R.R.A. Coomb and P.J. Lachmann (Eds): Clinical aspects of immunology. Blackwell Scient. Publ., Oxford/London/Edinbourg/Melbourne, 1975.

31. Csaba, B.: Allergische Reaktion vom Typ I (anaphylaktischer Typ). In: Filipp, G.: Allergologie. Band I. Dr. E. Banaschewski, München-Gräfeling, 1980.

32. Dale, S.: RAST and Absorption Techniques Used for the Study of the Allergen Distribution in Commercial House-Dust Extracts. Allergy 33 (1978), 345 (Abstract).

33. Debelić, M.; W. Schiess: Beeinflussung der IgE-vermittelten Hauttestreaktionen durch Ketotifen. Dtsch. med. Wschr. 106 (1981), 1704-1707.

34. Dewney, J.M.; D. Hinks; E. Manuel; C.D. Shaw; E.C. Tees: A clinical and enviromental study of the aeroallergens of the islands of Bermuda. Clin. Allergy 8 (1978), 445-453.

35. Dixit, J.P.: Dust-mite urticaria. Practitioner 210 (1973), 664.

36. Dorrington, K.J.; H.H. Bennich: Structure-function relation ships in human immunoglobulin E. Immunol.Rev.41(1978), 3-25.

37. Fine, S.R.; M. Forgaty; Z. Goel; M.H. Grieco: Correlation of serum theophylline levels with inhibition of allergen and histamine induced skin tests. Ann. Allergy 38 (1977), 440.

38. Freed, D.L.J.; C.H. Buckley; T. Tsivion; N. Sharon; D.H. Katz: Non-allergic Haemolysins in Grass Pollens and House Dust Mites. Allergy 38 (1983), 477-486.

39. Frostad, A.B.; R. Bolle; Ø. Grimmer; K. Aas: A new well-characterized, purified allergen preparation from timothy pollen. II. Allergenic in vivo and in vitro properties. Int. Arch. Allergy appl. Immunol. 55 (1977), 35-40.

40. Gabriel, M.; A.M. Cunnington; W.G.L. Allan; C.A.C. Pickering ; D.G. Wraith: Mite allergy in Hong Kong. Clin. Allergy 12 (1982), 157-171.

41. Galant, S.P.; J.Bullock; D. Wong; H.J. Maibach: The inhibitory effect of antiallergy drugs on allergen and histamine induced wheal and flare response. J. Allergy clin. Immunol. 51 (1973), 11-21.

42. Giertz, H.: Die Rolle der Mediatorstoffe bei allergischen Prozessen vom Frühtyp. In: Philipp, G.: Allergologie. Band I. Dr. E. Banaschewski, München-Gräfeling, 1980.

43. Gitoho, F.; P. Rees: High Altitude and House-Dust Mites. Brit. Med. J. 3 (1971), 475.

44. Gleich, G.J.; K.M. Leiferman; R.T. Jones; M.L. Hooton;

H. Baer: Analysis of the potency of extracts of June grass pollen by their inhibitory capacities in the radioallergosorbent tests. J. Allergy clin. Immunol. 58 (1976), 31-38.

45. Gleich, G.J.; J.B. Larson; R.T. Jones; H. Baer: Measurement of the potency of allergen extracts by their inhibitory capacities in the radioallergosorbent tests. J. Allergy clin. Immunol. 53 (1974), 158-169.

46. Grönneberg, R.; Ö. Hägermark; K. Strandberg: Effect in man of oral terbutaline on cutaneous reactions induced by allergen and cold stimulation. Allergy 35 (1980), 143-147.

47. Gronemeyer, W.: Zum Krankheitsbegriff der "Allergosen". Allergologie 1 (1978), 1-6.

48. Guerin, B.; S. Tioulong: Analysis of the non-immunological activity of allergen extracts in cutaneous tests. Clin. Allergy 9 (1979), 283-291.

49. Haahtela, T.; M. Heiskala; J. Suoniemi: Allergic Disorders and Immediate Skin Test Reactivity in Finnisch Adolescents. Allergy 35 (1980), 433-441.

50. Hammer, D.K.: Immunglobulin E (IgE)-vermittelte Reaktionen. Allergologie 2 (1979), 168-173.

51. Havnen, J.: Prick test and intracutaneous test. Variability in histamine tests between different individuals and the same individual. Acta Allergol. 29 (1974), 225-227.

52. Helson, G.A.H.: House dust mites and possible connection with sudden infant death syndrome. New-Zealand Med. J.

74 (1971), 209.

53. Hepple, S.; A.L. Mac Millan: Purpuric dermatosis due to house-dust mite (Dermatophagoides spp.) allergy: A case report. Clin. Allergy 3 (1973), 23.

54. Hewitt, M.; G.J. Barrow; D.C. Miller; F. Turk; S. Turk: Mites in the personal enviroment and their rolle in skin disorders. Brit. J. Dermatol. 89 (1973), 401-409.

55. Hussain, R.; D.G. Marsch; P.S. Norman: Rapidly released ragweed allergens. Abstr. 44. Amer. Congr. Allergy Immunol., New York, 1977.

56. Imber, E.W.: Allergic skin testing: a clinical investigation. J. Allergy clin. Immunol. 60 (1977), 47-55.

57. Indrajana, T.; F.T.M. Spieksma; R. Voorhorst: Comparative study of the intracutaneous, scrathch and prick tests in allergy. Ann. Allergy 29 (1971), 639-650.

58. Karg, W.: Hausstaubmilben in der DDR. Allergie u. Immunologie 19 (1973), 81-85.

59. King, T.P.: Purification and Characterization of Atopic Allergens. Allergy 35 (1980), 169-171.

60. Koekkoek, H.H.M.; J.E.M.H. van Bronswijk: Temperatur Requirements of a House-Dust Mite Dermatophagoides pteronyssinus with Climate in Different Habitants of Houses. Ent. Exp. & Appl. 15 (1972), 438-442.

61. König, W.: Immunologische Grundlagen der klinischen Allergologie. Allergologie 2 (1979), 223-233.

62. König, W.; B.M. Czarnetzki; L.M. Lichtenstein:

Eosinophil chemotactic factor (ECF). II. Release from human polymorphonuclear leucocytes during phagocytosis. J. Immunol. 117 (1976), 235-241.

63. Lawrence, J.: The house dust mite in the baby`s environment. Med. J. Australia 1 (1973), 1312-1313.

64. Lind, P.; J. Korsgaard; H. Lowenstein: Detection and Quantitation of Dermatophagoides Antigens in House Dust by Immunochemical Techniques. Allergy 34 (1979), 319-326.

65. Linkens, H.F.; W. Jorde; P. van der Werken: Time dependent release of allergens from rye pollen (Secale cereale). Applications of a quick extraction to the biomedical analysis of allerenic activity. Allergy et Immunpath. 4 (1976), 332.

66. Lowenstein, H.; N. Mygind: Extraction and Degradation of Timothy Pollen during Simulated in vivo Conditions. Allergy 33 (1978), 238-240.

67. Lustgraaf, B.van de; W. Jorde: Pyroglyphid mites, xerophilic fungi and allergenic activity in dust from hospital matress. Acta Allergol. 32 (1977), 406-412.

68. Lustgraaf, B. van de; G. Rijckaert; H.F. Linkens: Ökologie der Hausstaub-Allergene. Allergologie 1 (1978), 61-73.

69. Maasch, H.J.; J. Maass; W. Geissler: Untersuchungen zum Einfluß der Extraktionszeit auf den Gehalt von Inhaltsstoffen von Dermatophagoides pteronyssinus Extrakt. Allergologie 6 (1983), 52-54.

70. Mansfield, L.; H.S. Nelson: Allergens of commercial house dust extracts. J. Allergy clin. Immunol. 63 (1979), 212.

71. Michel, H.: Die allergische Diathese. In: Filipp, G.: Allergologie. Band I. Dr. E. Banaschewski, München-Gräfeling, 1980.

72. Mulvey, P.M.: Cot death survey. Anaphylaxis and the house-dust mite. Med. J. Australia 2 (1972), 1240-1244.

73. Mumcuoglu, Y.: House Dust Mites in Schwitzerland. I. Distribution and Taxonomy. J. Med. Ent. 13 (1976), 361-373.

74. Mumcuoglu, Y.: Zur Biologie der Hausstaubmilbe Dermatophagoides pteronyssinus (Trouessart, 1897) (Acarina: Astigmata). I. Ansiedlung der Milben auf neuen Matratzen. Allergie u. Immunologie 22 (1976), 127-131.

75. Mumcuoglu, Y.; E. Gerber-Hobel: Die Bedeutung der Hausstaub- und Vorratsmilben als Hausstauballergen bei der ländlichen Bevölkerung. Schweiz. med. Wschr. 107 (1977), 1909-1912.

76. Naerdal, A.; J.S. Vilsvik: Stabilization of a diluted aqueous mite allergen preparation by addition of human serum albumin. Clin. Allergy 13 (1983), 149-153.

77. Norman, P.S.; D.G. Marsh; J. Tignall: Stability of allergenic extracts diluted for testing. J. Allergy clin. Immunol. 57 (1976), 231.

78. Pauli, G.; J.C. Bessot; C. Hirth; R. Thierry: Dissociation of house dust allergies. A comparison between skin tests, inhalation test, specific IgE and basophil histamine release measurements. J. Allergy clin. Immunol. 63 (1979), 245-252.

79. Pauli, G.; D. Christman; J.C. Bessot; R. Thierry: Tierallergene im Hausstaub. Allergologie 4 (1981), 237-240.

80. Pearson, R.S.B.; A.M. Cunnington: The importance of mites in house dust sensitivity in Barbadian asthmatics. Clin. Allergy 3 (1973), 299-306.

81. Pepys, J.: Skin test in diagnosis. Clinical aspects of immunology. 2nd edn. Gell and Coombs, Blackwell Scientific Pub., Oxford, 1968.

82. Pepys, J.; O. Tangen; F.T. Perkins: Examination of cock-foot pollen (Dactyllis glomerata) extracts by skin prick test in man, RAST-based allergen assay and protein content. Dev. Biol. Stand. 29 (1975), 281-292.

83. Pletnev, B.D.; N.P. Dmitrieva: Allergy to mites - A pressing problem of allergology. Sovetsk. Med. 8 (1975), 74.

84. Rancour, J.M.; R.A. Stier: The stability of antigen E in aqueous and glycerinated short ragweed extracts stored at various temperatures. Abstracts of the Annual Meeting of the American Academy of Allergy 29 (1973), 71.

85. Rao, V.R.M.; B.V. Dean; A. Seaton; D.A. Williams: A comparison of mite populations in matress dust from hospital and from private houses in Cardiff, Wales. Clin. Allergy 5 (1975), 209-215.

86. Reinert, M.: Antihistaminika und Steroide. Auswirkungen auf die Hautreaktion im Allergentest. Prax. Pneumol. 35 (1981), 34-35.

87. Ricci, M.; G. Biliotti; S. Rogmanani: Antigenic and allergic constituents of Dermatophagoides pteronyssinus extract. Dev. Biol. Stand. 29 (1975), 123-131.

88. Rijckart, G.; J.L.V. Broers: Time dependent release of allergens from some xerophilic fungi. Allergy 35 (1980), 679-682.

89. Ruppert, V.: Prick- und Intrakutantests. Allergologie 1 (1978), 130-135.

90. Sachs, L.: Rangvarianzanalyse für mehrere verbundene Stichproben. In: Sachs, L.: Statistische Auswertungsmethode. 3. Aufl., Springer, Berlin-Heidelberg-New York, 1971, 422-429.

91. Schadewaldt, H.: Geschichte der Allergieforschung. In: Hansen, K.; M. Werner: Lehrbuch der klinischen Allergie, Thieme, Stuttgart, 1967.

92. Schultze-Werninghaus, G.; C. Dörrer: Häufigkeit und klinische Bedeutung von Sensibilisierungen gegen Hausstaub und Hausstaubmilbe bei Asthma bronchiale. Allergologie 1 (1978), 74-80.

93. Sessay, H.R.; R.M. Dobson: Studies on the Mite Fauna of the House Dust in Schottland with Special Reference to that of Bedding. Acarologia 14 (1972), 384-392.

94. Slott, R.J.; B. Zweiman: A controlled study of the effect of corticosteroids on immediate skin test reactivity. J. Allergy clin. Immunol. 54 (1974), 229-234.

95. Spector, S.L.: Effect of a selective $beta_2$ adrenergic agonist and theophyllin on skin test reactivity and cardiovascular parameters. J. Allergy clin. Immunol. 64 (1979), 23-28.

96. Spieksma, F.T.M.; P. Zuidema; M.J. Leipen: High Altitude and House-Dust Mites. Brit.Med.J. 1(1971), 82-84.

97. Squire, J.R.: The relationship between horse dandruff and horse-serum antigens in asthma. Clin. Sci. 9 (1960), 127-150.

98. Statford, B.C.: The house dust mite in the baby´s enviroment. Med. J. Australia 1 (1973), 1312-1313.

99. Stenius, B.: Skin and provokationstests with Dermatophagoides pteronyssinus in allergic rhinitis. Comparison of prick and intracutaneous skin test methods and correlation with specific IgE. Acta Allergol. 28 (1973), 81-100.

100. Stenius, B.; L. Wide: Prick, scratch, intracutaneous tests and specific IgE in the serum. Acta Allergol. 29 (1974), 227-228.

101. Stenius, B.; L. Wide; W.M. Seymour; V. Holford-Stevens; J. Pepys: Clinical significance of specific IgE to common allergens. Clin. Allergy 1 (1971), 37-55.

102. Sturm, J.; R. Wettengel: Der Einfluß von Glukokortikoiden auf die allergische Sofortreaktion im Hauttest und im bronchialen Provokationstest. Dissertation, Hannover, 1978.

103. Swain, H.H.; E.L. Becker: Quantitative studies in skin testing. V. - The whealing reactions of histamine and ragweed pollen extract. J. Allergy 23 (1952), 441-451.

104. Tovey, E.R.; R.A. Vandenberg: Effect of reagins and allergen extracts on radioallergosorbent assay for mite allergen. Clin. Allergy 8 (1978), 329-339.

105. Turner, K.J.; B.A. Baldo; J.M.N. Hilton: IgE antibodies to Dermatophagoides pteronyssinus (house dust mite),

Aspergillus fumigatus and ß-Lactoglobulin in Sudden Infant Death Syndrome. Dev. Biol. Stand. 29 (1975), 208-216.

106. Turner, K.J.; Sumarmo; C. Matondang-Siahaan: Precipitating factors in respiratory allergic disease in Indonesian children. Clin. Allergy 8 (1978), 145-154.

107. Vanto, T.; M. Viander; A. Koivikko: Skin prick test in the diagnosis of dog dander allergy. A comparison of different extracts with clinical history, provocation tests and RAST. Clin. Allergy 10 (1980), 121-132.

108. Virchow, C.; A. Roth; E. Möller: IgE antibodies to house dust, mite, animal allergens and moulds in house dust hypersesitivity. Clin. Allergy 6 (1976), 147-154.

109. Voorhorst, R.: Die pathogenen Allergene im Hausstaub. Therapiewoche 27 (1977), 4351-4361.

110. Voorhorst, R.: Standardization of allergens by an improved skin-testing technique. Dev. Biol. Stand. 29 (1975), 352-361.

111. Voorhorst, R.; H. van Krieken: Atopic skin test reevaluated. II. Variability in results of skin testing done in octuplicate. Ann. Allergy 31 (1973), 195-204.

112. Voorhorst, R.; F.T.M. Spieksma: 15 Jahre Hausstaubmilben-Forschung in Leiden. Allergologie 1 (1978), 93-101.

113. Voorhorst, R.; M.J.A. Spieksma-Boezeman; F.T.M. Spieksma: Is a mite (Dermatophagoides spp.) the producer of the house-dust allergen ? Allergie u. Asthma 10 (1964), 329-334.

114. Voorhorst, R.; F.T.M. Spieksma; H. Varekamp: House-dust atopy and the house-dust mite (Dermatophagoides pteronyssinus). Stafleu´s Scientific Publ. Co., Leiden, 1969.

115. Voorhorst, R.; F.T.M. Spieksma; H. Varekamp; M.J. Leupen ; A.W. Lyklema: The house dust mites (Dermatophagoides pteronyssinus) and the allergens it produces. Identity with the house dust allergen. J. Allergy 39 (1967), 325.

116. Warnatz, H.: Immunsystem. In: Siegenthaler, W.: Klinische Pathophysiologie. Thieme, Stuttgart, 1979.

117. Weeke, B.: Standardization of Allergen Preparations. Allergy 35 (1980), 172-176.

118. Wharton, G.W.: Mites and commercial extracts of house dust. Science 167 (1970), 1382-1383.

119. Wide, L.; H. Bennich; S.G.O. Johansson: Diagnosis of allergy by an in vitro test for allergen antibodies. Lancet 2 (1967), 1105-1107.

120. Woodcock, A.A.; A.M. Cunnington: The allergenic importance of house dust and storage mites in asthmatics in Brunei, S.E. Asia. Clin. Allergy 10 (1980), 609 - 615.

121. Wraith, D.G.; A.M. Cunnington; W.M. Seymour: The role and allergenic importance of storage mites in house dust and other enviroments. Clin. Allergy 9 (1979), 545-561.

122. Wüthrich, B.; H. Luggen-Brun: Zur Diagnostik der Hausstauballergie. I. Korrelation von verschiedenen

Extrakten aus Hausstaub, Hausstaub- und Vorratsmilben und Hausinsekten im Intrakutantest. Allergologie 3 (1980), 123-127.

123. Yman, L.; G. Ponterius; R. Brandt: RAST-based allergen assay methods. Dev. Biol. Stand. 29 (1975), 151-165.

124. Yunginger, J.W.; R.T. Jones; G.L. Gleich: Studies on Altenaria extracts by the direct RAST and by RAST inhibition. J. Allergy clin. Immunol. 58 (1976), 405 - 413.

125. Yunginger, J.W.; G.L. Gleich: Measurement of ragweed antigen E by double antibody radioimmunoassay. J. Allergy clin. Immunol. 50 (1972), 326-337.

126. Zenner, H.P.: Die ausführliche Anamnese - ein entscheidendes Instrument der Allergiediagnostik. Allergologie 1 (1978), 117-120.

127. Zenner, H.P.; W. Kley: Aktivität und Zusammensetzung von Allergenextrakten - ein ungelöstes Problem. Allergologie 4 (1981), 95-98.

LEBENSLAUF

Familienname:	Pramudji
Vorname:	Andrian
Geburtstag:	25. März 1953
Geburtsort:	Cirebon/Indonesien
Staatsangehörigkeit:	Indonesier
Familienstand:	seit 1984 verheiratet
Eltern:	Vater: **Anwar** Pramudji, Kaufmann, 1976 verstorben. Mutter: Tirtawati

Ausbildung im Heimatland:

1959 - 1965	Volksschule Santa Maria, Cirebon
1965 - 1968	Mittelschule Santa Maria, Cirebon
1969 - 1971	Oberschule Kanisius, Jakarta. Abschlußprüfung am 25. Oktober 1971

in der Bundesrepublik Deutschland:

SS 1972	Sprachausbildung an der Universität Heidelberg
WS 1972/73	Studienkolleg an der TH Aachen mit Abschlußprüfung am 28. März 1973
SS 1973	Praktikum der Elektrotechnik
WS 1973/74	Elektrotechnikstudium an der TH Aachen
SS 1974	Studienbeginn Humanmedizin an der Freien Universität Berlin
26. März 1976	Ärztliche Vorprüfung
31. März 1977	Erstes Staatsexamen
SS 1979 - WS 1979/80	Urlaubssemester
14. März 1980	Zweites Staatsexamen
SS 1980 - WS 1980/81	Praktisches Jahr in der Chirurgischen Abteilung des Behring-Krankenhauses Berlin-Zehlendorf, in der Innere-Medizin- und Gynäkologischen Abteilung des Krankenhauses Berlin-Moabit
12. Mai 1981	Ärztliche Prüfung nach zwölfsemestrigem Studium der Humanmedizin an der Freien Universität Berlin
SS 1981 - SS 1983	wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Dokumentationsstelle des Nuklearmedizinischen Institutes Klinikum Steglitz Berlin
September 1983 - Januar 1984	Medizinischer Berater bei der Firma Hexpharm Jaya, Jakarta/Indonesien
1984 /1985	Dissertationsarbeit. Seit Mai 1985 in der medizin-wissenschaftlichen Abteilung der Firma Helopharm Berlin

Herrn Prof. Dr. med. H. Michel danke ich für die Überlassung des Themas und die freundliche Unterstützung und Anleitung zum wissenschaftlichen Arbeiten.

Herrn Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. G. Fuchs danke ich für die freundliche Unterstützung zum statistischen Arbeiten.

Papyrus-Druck GmbH Berlin ☎ 3416451
Dissertationen